ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1982 THESE :99

LE SEX-RATIO CHEZ LA VACHE

Essai de controle pharmacologique par le calcium

THESE

pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en 1982
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

par

Philippe, Jacky VINGERING
Né, le 7 Décembre 1958 à MANS (Sarthe)

MEMBRES DU JURY

Président : Monsieur BESSOU
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : Monsieur RUCKEBUSCH
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur TOUTAIN
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

UNIV. LEIDEN KON.

ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE

ANNEE : 1982 THESE :99

LE SEX-RATIO CHEZ LA VACHE

Essai de controle pharmacologique par le calcium

THESE

pour le Doctorat Vétérinaire
(Diplôme d'Etat)
Présentée et soutenue publiquement en 1982
devant l'Université Paul Sabatier de Toulouse

par

Philippe, Jacky VINGERING
Né, le 7 Décembre 1958 à MANS (Sarthe)

MEMBRES DU JURY

Président : Monsieur BESSOU
Professeur à l'Université Paul Sabatier de Toulouse

Assesseurs : Monsieur RUCKEBUSCH
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

Monsieur TOUTAIN
Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse

MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE TOULOUSE

Directeur : ..... M. LAUTIE
Directeur honoraire : ..... M. FLORIO
Professeurs honoraires : ..... MM. BRIZARD
..... SAURAT
..... GODFRAIN

PERSONNEL ENSEIGNANT

CHAIRE DE PHARMACIE ET TOXICOLOGIE

Professeur titulaire : ..... Mme BURGAT-SACAZE
Maître-Assistant : ..... M. PETIT

Pharmacie et Toxicologie

CHAIRE DE PHYSIQUE ET CHIMIE BIOLOGIQUES ET MÉDICALES

Professeur titulaire : ..... MM. RICO
Professeur sans chaire : ..... BRAUN
Maître-Assistant : ..... BENARD

Physique biologique et médicale
Chimie biologique et médicale
Informatique biologique et médicale

CHAIRE D'ANATOMIE DES ANIMAUX DOMESTIQUES

Professeur titulaire : ..... MM. PAVAUX
Maître-Assistant : ..... LIGNEREUX
Maître-Assistant : ..... SAUTET

Organogénèse - Tératologie
Anatomie Générale - Anatomie appliquée

CHAIRE DE PHYSIOLOGIE, PHARMACODYNAMIE ET THÉRAPEUTIQUE

Professeur titulaire : ..... MM. RUCKEBUSCH
Professeur sans chaire : ..... FARGEAS
Maître-Assistant Agrégé : ..... TOUTAIN

Physiologie - Pharmacodynamie - Thérapeutique

CHAIRE D'HISTOIRE - ANATOMIE PATHOLOGIQUE

Professeur titulaire : ..... MM. VAN HAVERBEKE
Professeur sans chaire : ..... CABANIE
Maître-Assistant : ..... MAGNOL

Histologie - Embryologie
Anatomie Pathologique - Clinique

CHAIRE D'HYGIÈNE ET INDUSTRIE DES ALIMENTS D'ORIGINE ANIMALE

Professeur titulaire : ..... MM. LABIE
Maître de Conférence : ..... EECKHOUTTE
Maître Assistant Agrégé : ..... Mme BENARD

Hygiène, Inspection, Contrôle et Technologie des denrées alimentaires
d'origine animale - Clinique

CHAIRE DE PARASITOLOGIE ET MALADIES PARASITAIRES

Professeur titulaire : ..... MM. DORCHIES
Maître de Conférences : ..... FRANC
Maître Assistant : ..... DUCOS DE LAHITTE

Zoologie appliquée - Écologie - Parasitologie externe -
Dermatologie Parasitologie interne - Clinique

CHAIRE DE SEMIOLOGIE ET PATHOLOGIE MÉDICALE DES ÉQUIDÉS ET CARNIVORES ET DE LEGISLATION

Professeur titulaire : ..... MM. LESCURE
Maître de Conférences : ..... GUELFI
Maître Assistant : ..... REGNIER

Sémiologie et Pathologie Médicale des Équidés et Carnivores
Législation Vétérinaire et Déontologie Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE MÉDICALE DU BÉTAIL ET DES ANIMAUX DE BASSE-COUR

Professeur titulaire : ..... MM. TOURNUT
Maître de Conférences : ..... BEZILLE
Maître Assistant : ..... JOUGLAR

Sémiologie et Pathologie Médicale du Bétail
et des animaux de basse-cour
Clinique - Consultation itinérante

CHAIRE DE PATHOLOGIE CHIRURGICALE

Professeur titulaire : ..... MM. CAZIEUX
Maître de Conférences : ..... GENEVOIS
Maître Assistant : ..... AUTEFAGE
Maître Assistant : ..... FAYOLLE

Propédeutique et Sémiologie chirurgicale - Radiologie -
Technique chirurgicale - Anesthésiologie - Pathologie Chirurgicale -
Traumatologie - Podologie orthopédique - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE DE LA REPRODUCTION

Professeur titulaire : ..... MM. FERNEY
Professeur sans chaire : ..... ROYAL

Pathologie de l'appareil génital et de la mamelle -
Sémiologie et propédeutique - Pathologie de la Reproduction -
Obstétrique et pathologie du nouveau-né Clinique -
Consultation itinérante

CHAIRE DE MALADIES CONTAGIEUSES - ZOONOSES - LÉGISLATION SANITAIRE

Professeur titulaire : ..... MM. CHANTAL
Maître Assistant : ..... PICAVET

Épidémiologie - Maladies Contagieuses
Zoonoses - Législation sanitaire - Clinique

CHAIRE DE PATHOLOGIE GÉNÉRALE - MICROBIOLOGIE - IMMUNOLOGIE

Professeur titulaire : ..... MM. LAUTIE
Maître Assistant : ..... PELLERIN
Maître Assistant : ..... MILON

Microbiologie - Immunologie -
Pathologie Générale

CHAIRE D'ÉLEVAGE ET ÉCONOMIE

Professeur titulaire : ..... MM. QUEINNEC
Professeur sans chaire : ..... DARRE
Maître Assistant : ..... Mme QUEINNEC

Ethnologie - Génétique animale - Extérieur - Zootechnie et économie générales -
Ethologie appliquée, Sciences, Techniques, Economie de l'Élevage et des Productions animales -
Insémination artificielle - Organisation de l'Élevage

CHAIRE D'ALIMENTATION

Professeur titulaire : ..... MM. FALIU
Professeur sans chaire : ..... GRIESS
Maître Assistant : ..... ENJALBERT

Botanique appliquée et bromatologie
Agronomie - Alimentation

CHARGÉS D'ENSEIGNEMENT

MM. les Professeurs ANGELIER, ARMENGAUD, COMBES, COMBRET, CROS, FERNET et MAZENC.

La Faculté et l'Ecole déclarent n'être pas responsables des opinions émises par les candidats (délibération de a Faculté en date du 10 mai 1981 et du Conseil de l'Ecole en date du 13 juin 1924.)

LE SEX-RATIO CHEZ LA VACHE

ESSAI DE CONTROLE PHARMACOLOGIQUE PAR LE CALCIUM

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547625_0013

A MES PARENTS

Pour les sacrifices qu'ils se sont imposés.

Toute ma tendresse.

A MA FAMILLE

A MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE :

Monsieur le Professeur BESSOU

de l'Université Paul Sabatier de Toulouse.

Qui nous a fait le grand honneur

d'accepter la présidence de notre

jury de thèse.

Hommage respectueux.

A NOTRE JURY DE THESE :

Monsieur le Professeur RUCKEBUSCH
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Qui a toujours su nous recevoir agréablement et nous faire profiter de son expérience.

Hommage respectueux.

Monsieur le Maître-Assistant Agrégé TOUTAIN
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

Qui nous a proposé ce travail et guidé dans son élaboration. Nous le remercions vivement pour l'aide qu'il nous a apportée dans la réalisation de l'essai et l'interprétation de ses résultats.

A TOUS NOS MAITRES

de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse.

- P L A N -

INTRODUCTION

I - RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.

1.1. Théorie syngamique de la détermination du sexe.

1.2. Définitions du sex-ratio.

1.3. Modifications expérimentales du sex-ratio.

1.3.1. Invertébrés.

1.3.2. Batraciens.

1.3.3. Rat.

1.3.4. Variations expérimentales du sex-ratio chez l'Homme.

1.3.4.1. Facteurs constitutionnels spermatiques.

1.3.4.2. Facteurs occasionnels liés aux rapports sexuels.

1.3.4.3. Contrôle de l'alimentation.

1.3.5. Variations expérimentales du sex-ratio chez les Bovins.

1.3.5.1. Traitement in-vitro du sperme.

1.3.5.2. Délai entre l'ovulation et l'insémination.

1.3.5.3. Equilibre minéral et sex-ratio.

1.4. Conclusion.

II - EXPERIMENTATIONS PERSONNELLES CHEZ LES BOVINS. ESSAIS CLINIQUES

2.1. Cadre général de l'essai.

2.2. Méthodes.

2.2.1. Formulation des objectifs.

2.2.2. Formation des échantillons et plan expérimental.

2.2.3. Traitement.

2.2.4. Critères de jugement.

2.2.5. Déroulement pratique de l'essai et recueil des données.

2.2.6. Analyse des données.

2.3. Résultats

2.3.1. Respect du plan expérimental.

2.3.2. Effet du traitement sur le sex-ratio.

2.3.3. Effet du traitement sur le sex-ratio en fonction du niveau de la production laitière.

2.3.4. Effet du traitement sur le sex-ratio en fonction du sexe du dernier veau.

2.3.5. Effet du traitement sur la fertilité.

2.3.6. Influence de la production laitière sur la fertilité.

2.4. Discussion.

BIBLIOGRAPHIE

I N T R O D U C T I O N

Le contrôle des différents aspects de la reproduction a fait l'objet d'une activité de recherche intense ayant pour finalité d'optimaliser les productions animales ; insémination artificielle, contrôle du cycle oestral et de la fécondation, transfert d'embryons, contrôle de la parturition ... sont à l'heure actuelle maîtrisés ou en vue de l'être. En revanche, le choix du sexe se présente toujours comme un objectif pour lequel aucune technique simple et sûre n'a été suggérée.

La détermination volontaire du sexe présente de multiples intérêts pour les espèces domestiques en général ; chez les Bovins en particulier, ils sont d'ordre économique (favoriser une production laitière ou bouchère) et zootechnique (accélérer la sélection). Par contre, chez l'Homme, ils seront d'ordre médical et psychologique ; médical parce que certaines affections congénitales sont liées au sexe (37) et que la plupart d'entre elles concernent le sexe masculin (daltonisme, favisme, myopathie de Duchenne, hémophilie) ; psychologique parce qu'après l'acquisition de la contraception, la volonté de choix du sexe de l'enfant en représente la suite logique.

Dans ce travail de thèse, nous rapporterons les résultats d'un essai clinique ayant pour objectif de modifier la répartition des sexes chez les Bovins par l'administration intramusculaire de calcium au moment de l'insémination. Au préalable, un bref rappel bibliographique présentera les principales données de la littérature consacrées au sex-ratio et à son contrôle.

I - RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1.1. THEORIE SYNGAMIQUE DE LA DETERMINATION DU SEXE

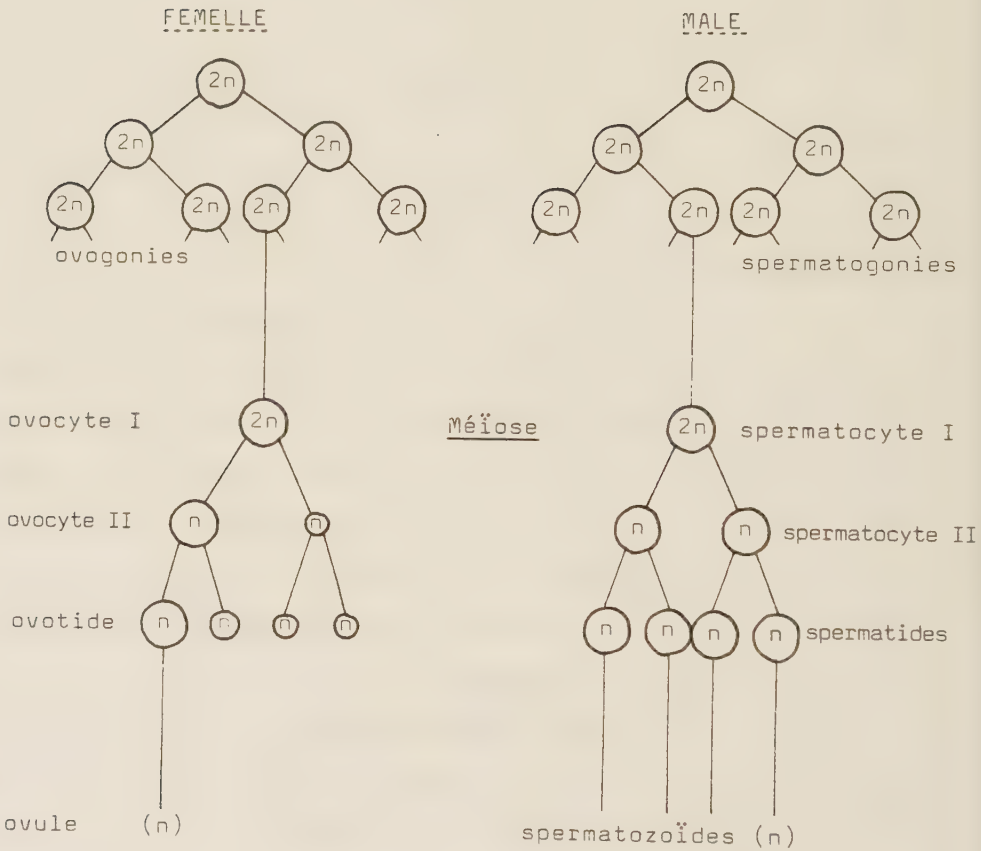
L'évolution des cellules germinales en gamètes se fait dans les deux sexes selon une même ligne directrice ; les durées respectives des différentes étapes varient d'un sexe à l'autre. La figure 1 rappelle l'évolution de la gamétogénèse (21).

Chez les Mammifères, après la méïose, une cellule diploïde donne un gamète (ovule) chez la femelle et quatre gamètes (spermatozoïdes) chez le mâle. Chaque gamète est haploïde, et c'est l'union des deux gamètes lors de la fécondation qui rétablit l'état diploïde spécifique de l'individu.

Dans le stock pair de chromosomes (2n) ont été individualisés (2n - 2) autosomes et une paire de chromosomes sexuels, X et Y chez les Mammifères. Dans cette classe, la femelle est homogamétique XX et le mâle est hétérogamétique XY. Chaque méïose chez la femelle fournit un ovule haploïde dont le chromosome sexuel est forcément X ; en revanche, elle fournit chez le mâle quatre spermatozoïdes dont deux sont porteurs du gonosome X et deux porteurs du gonosome Y.

La détermination du sexe se fera au moment de la fécondation, par l'union d'un ovule (porteur de X) et d'un spermatozoïde soit porteur de X (ce qui donnera un individu femelle), soit porteur de Y (ce qui engendrera un mâle). Théoriquement, suite aux innombrables méïoses, le sperme contient 50 % de spermatozoïdes X et 50 % de Y ; a priori, l'occurence des sexes mâle et femelle est équiprobable.

figure 1 : Gamétogénèse chez les Mammifères.



d'après LAMOTTE et L'HERITER.

1.2. DEFINITIONS DU SEX-RATIO

Le sex-ratio rend compte de la proportion naturelle des sexes dans une population donnée. Il est généralement exprimé en nombre de mâles pour 100 femelles (58). D'autres auteurs le traduisent parfois par le taux de naissances de mâles par rapport à l'ensemble des naissances (59). Nous adopterons la première définition.

Il est classique de distinguer des sex-ratios primaire et secondaire.

A la conception, le sex-ratio qualifié de primaire est supérieur à 100, ainsi que l'ont montré SUNG LEE et TAKANO (53) par l'étude d'embryons humains obtenus lors d'avortements médicaux ou spontanés avant la sixième semaine de gestation. Cela doit faire admettre une supériorité des spermatozoïdes Y, en nombre ou en rapidité, lors de la fécondation. A cet égard, QUINLIVAN et SULLIVAN (29) ont montré que 6 % des spermes humains présentaient une nette prédominance en spermatozoïdes Y. De plus, le marquage différentiel des spermatozoïdes X et Y (3) (27) permet d'appuyer la théorie selon laquelle les spermatozoïdes Y, moins lourds que les X, sont plus rapides (42). Toutefois, SEGUY (39) suggère que d'autres mécanismes sont à impliquer pour expliquer la prédominance du sexe mâle au moment de la fécondation.

A la naissance, on parle de sex-ratio secondaire. Il est de 106 chez l'Homme, de 104 à 106 chez les Bovins. Ce retour à un relatif équilibre entre les deux sexes serait la conséquence d'une élimination immunologique préférentielle des oeufs mâles (39). La gestation peut être assimilée à une greffe qui se maintient

jusqu'au terme grâce à l'intégrité d'une barrière placentaire imperméable au pouvoir antigénique du foetus (35). Une brèche placentaire entraîne l'apparition d'anticorps maternels anti-ovulaires (26), et selon SEGUY (39), le foetus mâle possède un pouvoir antigénique supérieur au foetus femelle. Ce qui expliquerait la plus grande fréquence des avortements de foetus mâles.

C'est au sex-ratio secondaire que nous nous intéresserons au cours de cette étude ; dans un souci de clarté, nous ne parlerons toutefois que de "sex-ratio".

1.3. MODIFICATIONS EXPERIMENTALES DU SEX-RATIO

Chez l'Homme et les Bovins, la valeur du sex-ratio au niveau d'une population est de l'ordre de 105 - 106 ; cette moyenne est sujette à des variations naturelles et provoquées. Dans ce chapitre, nous envisagerons les principales méthodes et techniques qui ont été proposées pour modifier la valeur du sex-ratio (28) (58).

1.3.1. INVERTEBRES

Pour le ver marin Bonellia viridis, il a été montré (18) qu'une augmentation progressive de la teneur en potassium de l'eau de mer artificielle dans laquelle sont élevées des larves augmentait le pourcentage des mâles de 2 à 98 % -la valeur 2 % correspond au minimum de potassium indispensable à la survie des larves-. (fig.2).

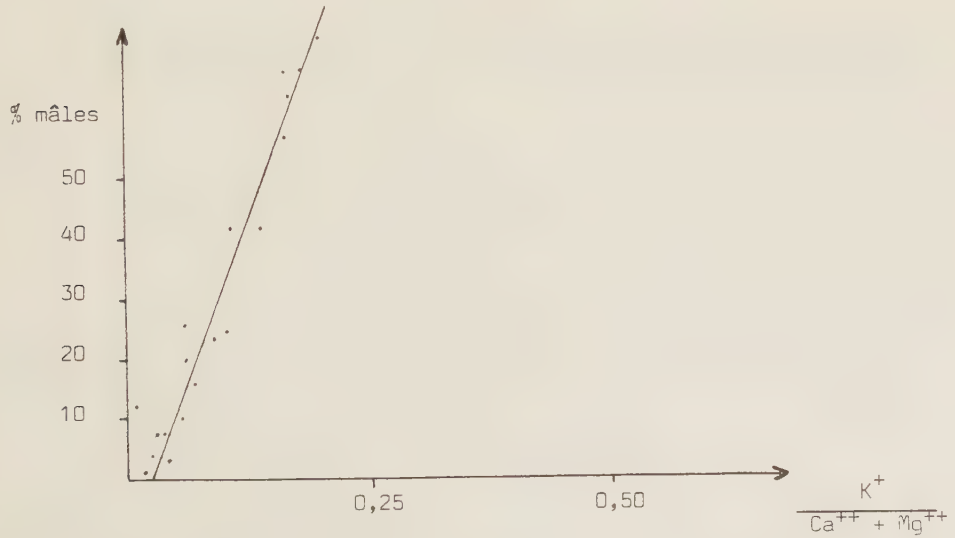


figure 2 : Distribution des sexes chez Bonellia viridis en fonction du rapport $K^+/Ca^{++} + Mg^{++}$ du milieu d'élevage.

Des observations similaires ont été réalisées sur d'autres espèces de vers marins : Ophryotroca puerilis (14) et Dinophilus apatris (56).

1.3.2. BATRACIENS

Selon WITSCHI (62), l'élevage de têtards de Rana à une température excessive (28° C) entraîne la formation d'une majorité de mâles. En revanche, une température basse (10° C) favorise le sexe femelle. Pour BACHRACH (2), les cellules supportent mieux l'élévation de la température ambiante si le milieu est riche en potassium, et les températures basses si le milieu est riche en calcium. Ces observations préliminaires suggèrent une influence de la composition ionique du milieu sur le sex-ratio.

Selon STOLKOWSKI et BELLEC (47), les ions K^+ et Ca^{++} agissent sur les têtards de Discoglossus pictus en modifiant la répartition des sexes. La figure 3 traduit l'évolution du sex-ratio de la population en fonction de l'équilibre relatif de ces deux ions dans l'eau d'élevage des têtards, 72 heures après la fécondation. Il apparaît que les solutions équilibrées en potassium et en calcium (rapport = 0,48) donnent un sex-ratio de 100, une solution enrichie en potassium favorise le sexe mâle (le sex-ratio peut atteindre une valeur supérieure à 200). Une solution enrichie en calcium peut diminuer le sex-ratio (fig.3).

Le magnésium jouerait un rôle équivalent à celui du calcium (fig.4).

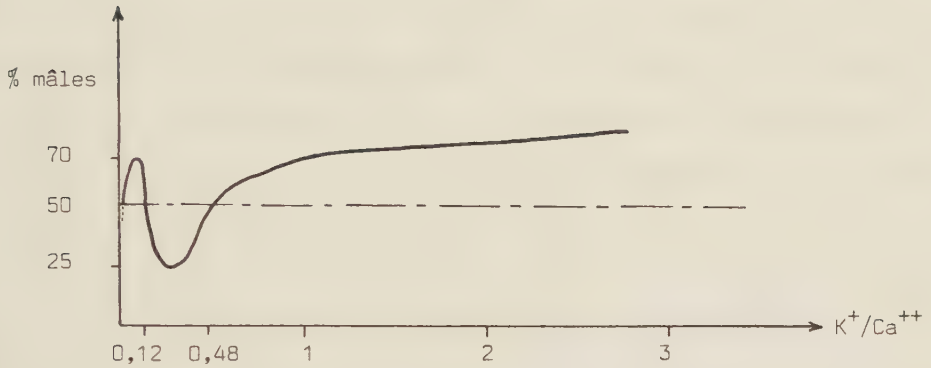


figure 3 : Pourcentage de mâles en fonction du rapport K^+/Ca^{++} dans le milieu d'élevage de Discoglossus pictus.

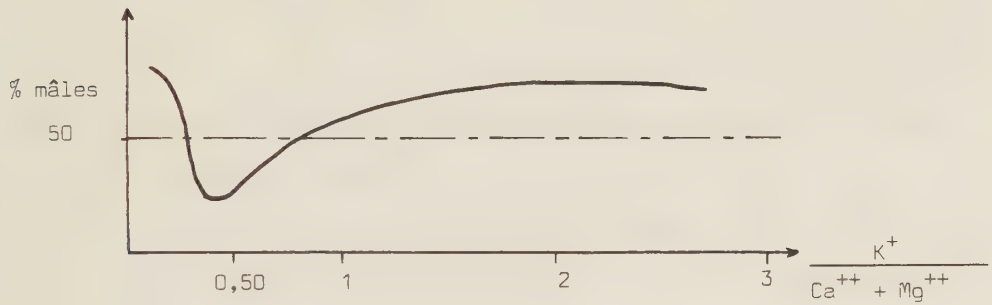


figure 4 : Pourcentage de mâles en fonction du rapport $K^+/Ca^{++}+Mg^{++}$ dans le milieu d'élevage de Discoglossus pictus.

Il est à noter que c'est le rapport $K^+/Ca^{++}+Mg^{++}$ qu'il importe de prendre en considération, et non la valeur absolue des concentrations ioniques.

En définitive, une majorité de mâles est obtenue dans un milieu hyperpotassique, tandis qu'un milieu enrichi en calcium et magnésium fournit un excès de femelles. STOLKOWSKI (44) suggère que les ions pénètrent dans les cellules et agissent sur le génôme par le biais de mécanismes de répression ou d'antirépression des gènes.

Initialement, on avait pensé qu'il n'existait pas de gonosomes individualisés chez les animaux inférieurs mais que les gènes sexualisants étaient dispersés sur l'ensemble des chromosomes, lesquels seraient tous atteints par l'augmentation des concentrations ioniques ; MIRSKY et OSAWA (24) ont en effet montré que le calcium s'accumule facilement dans le noyau. Cependant, MORESCALCHI a décrit en 1964 le caryotype du Discoglosse et signalé l'existence de gonosomes individualisés : la femelle serait hétérogamétique (25). La présence de gonosomes rend improbable l'idée d'une "inondation" ionique du stock chromosomique, tout au moins face à la théorie actuellement admise qui accorde aux hétérochromosomes la responsabilité de la détermination du sexe.

Au-delà des 15 jours suivant la fécondation, il n'est plus possible de provoquer le déséquilibre du sex-ratio. Les glandes endocrines du Discoglosse n'étant fonctionnelles qu'à partir de 3 semaines, il faut écarter l'hypothèse d'une intervention hormonale. Il a d'ailleurs été mis en évidence une interférence entre les modalités d'action des hormones sexuelles et le métabolisme minéral : c'est le cas de la testostérone (propionate) chez le Discoglosse qui, masculinisante pour les valeurs du rapport potassium/alcalinoterreux favorisant les

femelles, devient féminisante lorsque ce rapport augmente (48). Cette interférence n'existe pas pour l'oestradiol (23).

1.3.3. RAT

Chez le Rat, l'influence des minéraux sur le sex-ratio a été envisagée par des manipulations du régime alimentaire ; selon STOLKOWSKI et FOURNIER (44), des femelles rendues rachitiques par un régime "amidon" dépourvu de facteur d'assimilation du calcium donnent naissance à une majorité de femelles (sex-ratio = 76). Par contre, des rattes hypercalcémiques (régime riche en lactose favorisant l'assimilation du calcium) donnent plus de mâles que de femelles (sex-ratio = 140). Enfin, les témoins ont un sex-ratio de 99.

Selon CLUZAN (5), des rats Wistar qui consomment pendant plusieurs mois une boisson de métabisulfite de potassium engendrent plus de femelles.

Ces résultats obtenus chez le Rat s'opposent donc, par le sens de la variation, à ceux observés auparavant chez les Batraciens. Mais ils suggèrent eux-aussi une relation entre équilibre ionique et sex-ratio.

1.3.4. VARIATIONS EXPERIMENTALES DU SEX-RATIO CHEZ L'HOMME

1.3.4.1. Facteurs constitutionnels spermatiques.

Le spermatozoïde, gamète mâle haploïde, étant porteur du gonosome déterminant, on a cherché à isoler les deux types différents de cette cellule. Les premiers travaux ont étudié la répartition des spermatozoïdes en fonction du pH vaginal (57). De nombreux chercheurs ont approfondi les travaux sur

l'ultracentrifugation du sperme (15) (30) (40), obtenant un culot lourd qui donne plutôt naissance à des filles, le surnageant engendrant plutôt des garçons. Le marquage différentiel des spermatozoïdes (3) (27) a appuyé le fait que les spermatozoïdes porteurs de X seraient les plus lourds.

D'autres étudièrent la variation du pH du sperme en solution (10) et les derniers travaux de DIASIO et GLASS en 1971 ne montrent aucun effet du pH sur le pourcentage de spermatozoïdes Y migrant dans des tubes capillaires.

En 1961, SHETTLES (41) différencie morphologiquement les deux types de spermatozoïdes au microscope à contraste de phase, les Y ayant une tête ronde et petite, les X une tête ovale et grande. Toutefois, ces travaux ont été critiqués dans la mesure où les différences observées relèveraient d'anomalies optiques dues au contraste de phase (4) (31) (61). Dans cette perspective, le marquage au dihydrochloride de quinacrine (produit fluorescent) du bras long du chromosome Y (3) (27) devrait permettre de distinguer les spermatozoïdes X et Y. Les résultats publiés par ERICSSON en 1973 sur une méthode de filtration différentielle des spermatozoïdes dans de l'albumine de boeuf n'ont pas été confirmés par d'autres chercheurs (11).

En définitive, il apparaît qu'aucune méthode réellement efficace de triage des spermatozoïdes n'est actuellement disponible.

1.3.4.2. Facteurs occasionnels liés aux rapports sexuels

SHETTLES en 1970 considère que les spermatozoïdes Y sont plus rapides mais moins résistants que les X (42).Il en déduit que le moment de l'insémination par rapport à celui de

l'ovulation doit jouer un rôle important ; cette théorie a été reprise par plusieurs auteurs (16) (36) (38) (39). Dans cette optique, la courbe de température sert de point de repère pour déterminer la date d'ovulation.

L'acidité vaginale réduit à quelques heures la survie des spermatozoïdes (19), toutefois le liquide séminal possède une action tampon rapide et durable (8 à 10 heures). Des alcalinisations ou des acidifications vaginales pourront être indiquées pour rendre le milieu favorable ou défavorable à la survie des gamètes mâles : un pH alcalin avantage les spermatozoïdes Y et un pH acide les spermatozoïdes X, ces derniers étant beaucoup plus résistants.

Selon SEGUY (39), un rapport sexuel conduisant à l'orgasme favorise les spermatozoïdes Y ; il en est de même pour une intromission profonde qui dépose le sperme au contact de la glaire cervicale.

La fréquence des rapports sexuels intervenant sur la qualité de la semence (60), une oligoasthénospermie "fonctionnelle" entraînée par des rapports sexuels fréquents favorise nettement la naissance de filles.

Toutes ces investigations ont eu des conséquences pratiques relativement accessibles au grand public, surtout en Allemagne Fédérale et aux Etats-Unis (36). La naissance d'un garçon sera favorisée par : a) un rapport sexuel le plus rapproché possible de l'ovulation ; b) une abstinence sexuelle complète avant le rapport sexuel ; c) une injection vaginale alcaline à base de bicarbonate ; d) une pénétration profonde du pénis dans

le vagin. La naissance d'une fille sera favorisée par l'observation d'un protocole rigoureusement inverse. SHETTLES aux Etats-Unis, HATZOLD en Allemagne estiment dépasser les 85 % de succès avec cette méthode, taux non atteint en France par SEGUY (77 %).

1.3.4.3. Contrôle de l'alimentation

Plusieurs enquêtes réalisées ces dernières années sur l'alimentation minérale des femmes avant et au cours de la grossesse tendent à accorder un effet favorisant la naissance de filles à un régime alimentaire riche en alcalinoterreux (22) (45) (46) (49).

Ces hypothèses chez l'Homme ont découlé de travaux effectués sur les Bovins (17).

1.3.5. VARIATIONS EXPERIMENTALES DU SEX-RATIO CHEZ LES BOVINS

1.3.5.1. Traitement in-vitro du sperme

Plusieurs techniques de fractionnement des éjaculats ont été proposées pour séparer les spermatozoïdes porteurs respectivement du chromosome X ou Y. Par centrifugation ou sédimentation dans un milieu approprié, le sperme peut être subdivisé en plusieurs fractions. Selon KRZANOWSKI (20), l'utilisation de la fraction ayant sédimenté le plus rapidement entraîne une diminution du sex-ratio. Toutefois, la fertilité est diminuée et la prépondérance de femelles est expliquée par une mortalité embryonnaire supérieure des mâles. Avec la technique de sédimentation proposée par SCHILLING (32), COUROT et ESNAULT n'obtiennent aucune variation significative du sex-ratio (8). De façon générale

il apparaît que les différents procédés utilisés pour trier les spermatozoïdes (centrifugation, sédimentation, électrophorèse, variation du pH,...) entraînent une diminution du pouvoir fécondant des spermatozoïdes sans pour autant modifier de façon importante le sex-ratio.

1.3.5.2. Délai entre l'ovulation et l'insémination

Bien qu'il existe de nombreux résultats contradictoires (6) (58) aussi bien chez l'Homme que chez l'animal, on s'accorde pour affirmer qu'une insémination rapprochée du moment de l'ovulation est un facteur favorisant la naissance de mâles (13).

1.3.5.3. Equilibre minéral et sex-ratio (travaux de STOLKOWSKI)

Sur la base des résultats obtenus chez le Crapaud, STOLKOWSKI a réalisé un certain nombre d'observations et d'expérimentations visant à démontrer l'influence de l'équilibre minéral sur le sex-ratio dans l'espèce bovine.

- ENQUETE RETROSPECTIVE (43) -

Elle fut menée de 1965 à 1967 dans 134 fermes et porte sur 25 653 naissances. Seules les exploitations présentant un minimum de 40 naissances dans le troupeau ont été retenues. Pour chaque exploitation, les informations suivantes ont été fournies : a) nombre de naissances mâles et femelles enregistrées par année sur 10 ans ; b) pH, nature et amendement éventuel des prairies, engrais utilisés, épandages éventuels de purin et fumier ; c) période des saillies ; d) ration alimentaire des vaches.

La dominante minérale de la nourriture fut exprimée de façon codée : son intensité (faible, nette, très nette) étant représentée par les chiffres 1, 2, 3 et sa qualité (potassique ou calcique) par un signe (+ ou -).

Les résultats sont résumés dans le tableau I.

Dominante minérale		Nombre de fermes	Sex-ratio
Nature	Importance		
Calcique	- 3	5	68
	- 2	22	87
	- 1	14	92
Aucune	0	27	102
Potassique	+ 1	32	108
	+ 2	31	126
	+ 3	3	140

Tableau I : Sex-ratio en fonction de la dominante minérale des exploitations. Enquête rétrospective (d'après STOLKOWSKI 1970).

La figure 5 donne le sex-ratio en fonction de la dominante minérale ; il apparaît que le facteur calcium favorise la naissance de femelles et que le facteur potassium favorise la naissance de mâles. La corrélation est r = 0,60, ce qui est significatif.

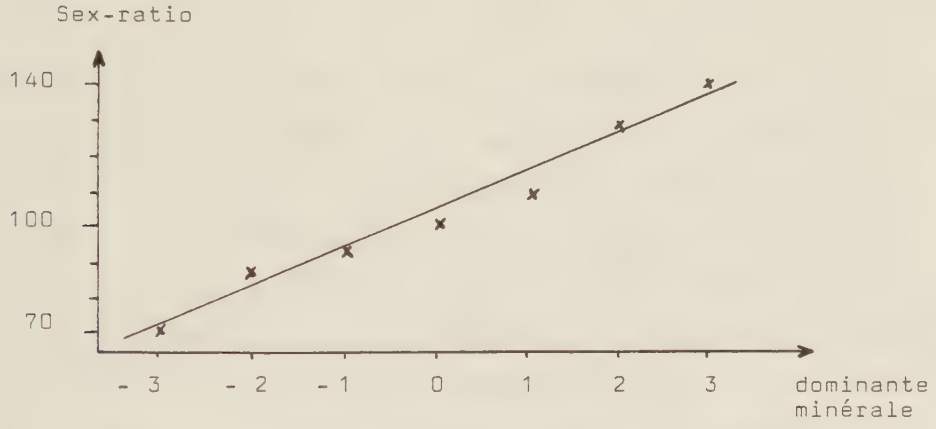


figure 5 : Sex-ratio en fonction de la dominante minérale des exploitations. Enquête rétrospective (d'après STOLKOWSKI 1970).

L'appréciation de la dominante minérale était délicate à faire. En pratique furent retenues les valeurs minimale, moyenne et maximale en Ca^{++}, K^{+} et Mg^{++} des principales espèces botaniques de prairie naturelle au stade pâture. L'ensemble de la ration devenait alors chiffrable et les trois éléments furent évalués dans un rapport $K^{+}/Ca^{++} + Mg^{++}$. Les divers calculs firent apparaître une dominante potassique pour des valeurs du rapport supérieures à 1,70, et une dominante alcalinoterreuse pour des

valeurs inférieures à 1. Compte-tenu de la bonne assimilation du potassium des aliments (dont les sels sont solubles), nettement supérieure à celle des alcalinoterreux (sous forme de sels souvent insolubles), les limites définissant la zone d'équilibre du rapport furent ramenées à :

$$1 < K^{+} / Ca^{++} + Mg^{++} < 1,5$$

- ENQUETE PROSPECTIVE (50) -

Un enquête et un essai ont été effectués dans 82 exploitations de Normandie en 1967 - 1968. L'analyse des aliments a permis de classer les fermes en deux groupes ; pour celles du groupe I, le rapport $K^{+}/Ca^{++}+Mg^{++}$ est supérieur à 1 (n=30), alors qu'il est inférieur à 1 dans celles du groupe II (n=52). Dans ces élevages, 293 vaches ont reçu un complément minéral visant à modifier la répartition des sexes. 108 vaches appartenant au groupe I ont reçu un mélange dont la composition est la suivante : phosphate de soude 30 %, chlorure de sodium 20 % , prémix iode-cobalt 1 %, excipient 49 %. 185 vaches du groupe II ont reçu un mélange dont la composition est la suivante : phosphate bicalcique 40 %, chlorure de sodium 20 %, prémix iode-cobalt 1 %, magnésie sèche 20 %, excipient 19 %. Les quantités distribuées dans la ration varient selon les élevages de 75 à 250 g. par jour.

Le tableau II présente la répartition des sexes dans les deux groupes pour les vaches témoins. Bien que le groupe II présente un excès de femelles, la différence n'est pas significative (Chi 2 = 1,18)* pour $P < 0,05$.

Le tableau III présente les résultats obtenus pour les vaches traitées et leurs témoins.

*Les analyses statistiques ont été effectuées par nos soins, et non par les auteurs de cette enquête.

Groupe	I	II
Nombre de Veaux mâles	105	187
Nombre de veaux femelles	106	227
Sex-ratio	99,0	82,4

Tableau II : Répartition des sexes et sex-ratio dans les groupes I et II chez les vaches témoins.

Groupe	I			II			Chi 2 calculé	p
sexe des veaux	M	F	Sex-ratio	M	F	Sex-ratio		
Vaches traitées	58	50	116,0	78	107	72,9	3,65	0,056
Vaches témoins	62	89	69,6	110	130	84,6	0,86	0,35
Chi2 calculé	4,05			0,57				
p	0,044			0,45				

Tableau III : Répartition des sexes et sex-ratio dans chaque groupe pour les vaches traitées et leurs témoins.

A partir du tableau III, il peut être déduit : a) une absence de différence entre les groupes I et II pour les témoins ; b) une influence significative pour $P < 0,05$ du traitement au sein du groupe I ; c) une absence d'effet du traitement au sein du groupe II. Bien que le protocole expérimental soit sujet à plusieurs critiques, il peut être légitime d'envisager un effet de l'équilibre minéral de la ration alimentaire au moins pour les vaches ayant normalement un excès de potassium dans leur régime alimentaire.

- ESSAIS DE SURCHARGE ALIMENTAIRE MINERALE ET VITAMINIQUE (51).-

Dans une série d'essais en 1969 -1970, STOLKOWSKI et LEFEVRE ont tenté de modifier la répartition des sexes par l'administration de différents composés minéraux et vitaminiques. Compte-tenu du nombre de formules testées et de la faiblesse des effectifs, il est impossible de tirer des conclusions individuelles appuyées sur des tests statistiques. Pour tenter d'apprécier l'efficacité des différents traitements, nous avons regroupé toutes les observations de ces auteurs en deux groupes : le groupe I réunit les animaux recevant un traitement destiné à favoriser l'obtention de mâles, à base de chlorure de potassium et de phosphate de potassium ; dans le groupe II se trouvent les animaux recevant un traitement destiné à favoriser l'obtention de femelles, à base de vitamines A, D_3, E, de carbonate de calcium et d'oxyde de magnésium.

Le tableau IV résume les données obtenues. Il apparaît que le traitement destiné à augmenter le nombre de femelles est efficace. En revanche, le traitement visant à favoriser les mâles

est dénué d'action.

Traitement	I			II		
Répartition des veaux	M	F	Sex-ratio	M	F	Sex-ratio
Vaches témoins	20	19	105,2	49	23	213,0
Vaches traitées	31	14	221,4	20	35	57,1
Chi 2 calculé	2,72			12,62		
P	0,099			0,00038		

Tableau IV : Répartition des sexes et sex-ratio chez les animaux témoins et traités en fonction de la nature du traitement.

- ESSAI DE TRAITEMENT ADMINISTRE PAR VOIE PARENTERALE -.

Vu les difficultés pratiques rencontrées lors de l'utilisation de la ration alimentaire pour modifier le sex-ratio, STOLKOWSKI et coll.(9) (52) ont réalisé différentes observations relatives à l'administration parentérale de vitamines A, D_3, E, de soluté calcique. Bien que plusieurs aspects méthodologiques soient défaillants, un effet dans le sens attendu a été noté.

1.4. CONCLUSION

Un ensemble de travaux effectués par la même école suggère que l'équilibre minéral ($K^+/Ca^{++}+ Mg^{++}$) est susceptible de modifier de façon significative le sex-ratio chez les Bovins. Toutefois, les différents résultats proposés ne sont pas exempts de critiques dans la mesure où les méthodologies employées ne répondent pas aux critères actuellement en vigueur en matière d'essais cliniques contrôlés. C'est pourquoi nous avons élaboré deux essais cliniques au protocole fiable, tentant de modifier le sex-ratio chez les Bovins par traitement parentéral.

II - EXPERIMENTATIONS PERSONNELLES CHEZ LES BOVINS

ESSAIS CLINIQUES

2.1. CADRE GENERAL DE L'ESSAI.

L'expérimentation a été effectuée dans le Pays de Bray (départements Seine-Maritime et Oise) en 1978-1979 et 1981-1982 (55). Cette région à vocation laitière a été retenue car les éleveurs s'y plaignent traditionnellement d'un déséquilibre dans la répartition des sexes au profit des mâles (12), ce qui les pousse à d'importants achats de génisses pour renouveler les troupeaux.

Tous les élevages (10 pour le premier essai et 30 pour le second) appartiennent à un même C.E.T.A.* animé par un technicien qui a eu la charge d'organiser et de contrôler le déroulement de l'essai sur le terrain et de collecter les résultats.

L'alimentation dans les élevages est à base d'ensilage de maïs ; dans la plupart des exploitations, il est donné un complément minéral assurant un apport de calcium largement supérieur aux besoins théoriques.

La totalité des élevages retenus est soumise au contrôle laitier. La race dominante est la Française-Frisonne. La moyenne des productions laitières est assez élevée : pour les vaches entrant dans l'essai et ayant déjà effectué une lactation, les moyennes de production ont été de 4925 $\pm$ 1312 kg et de 5134 $\pm$ 1422 kg respectivement pour le premier et le second essai.

Le but de l'essai est, bien sûr, de déplacer le sex-ratio vers un excès de femelles.

*C.E.T.A. : Centre d'Etudes Techniques Agricoles.

2.2. METHODES (33) (34) (54).

2.2.1. FORMULATION DES OBJECTIFS

En matière d'essai clinique, une formulation préalable et précise des objectifs est indispensable à la conception d'un dessin expérimental optimal. L'objectif principal a été d'évaluer l'effet sur le sex-ratio d'une administration de calcium par voie intramusculaire chez la vache laitière au moment de l'insémination artificielle. En outre, deux objectifs accessoires ont été envisagés :

a) l'effet du traitement sur la fertilité ;

b) l'interaction entre l'effet du traitement et le niveau de la production lactée.

2.2.2. FORMATION DES ECHANTILLONS ET PLAN EXPERIMENTAL

Les critères "bon pour essai", permettant à un animal d'être retenu dans un échantillon, sont les suivants : toute vache présente sur l'exploitation et devant subir une insémination artificielle. Selon ces critères, 516 et 796 vaches ont été répertoriées avant le début de l'essai, respectivement en 1979-1980 et 1981-1982. Afin de pouvoir évaluer une éventuelle interaction entre la production laitière et le traitement, une stratification a été effectuée en fonction de la valeur de la dernière lactation. C'est ainsi que dans chaque exploitation, 3 groupes sont formés :

a) production supérieure à 5500 kg ;

b) production comprise entre 5500 et 4000kg ;

c) production inférieure à 4000 kg.

Dans chacun de ces groupes, il est constitué par randomisation

deux lots équilibrés, l'un servant de témoin, l'autre recevant le traitement. Pour le second essai, il a été demandé aux éleveurs d'ajouter les vaches non répertoriées avant le début de l'essai (essentiellement des primipares et des vaches effectuant leur première lactation) et de les répartir en deux lots égaux.

2.2.3. TRAITEMENT

Le traitement a consisté en l'administration d'une solution de sels de calcium. Pour le premier essai, le produit utilisé contient également du magnésium. Le tableau V précise la composition et l'origine des produits utilisés. La solution est injectée par voie intramusculaire (croupe ou encolure) en 3 à 4 points sous un volume de 100 ml, soit un apport total de calcium de 4,6 g pour le premier essai et de 4,0 g pour le second. L'administration est réalisée soit intégralement au moment de l'insémination artificielle, soit en deux injections de 50 ml séparées de 3-4 heures, la première étant réalisée lors de l'insémination artificielle.

ESSAI	1979-1980	1981-1982
Nom déposé	CALCITAD (Jnilabo)	THERACALCIUM (Vétoquinol)
Composition pour 100 ml(g)		
Gluconate de calcium	11,2	35
Glucoheptonate de calcium	0	10
Carbonate de calcium	1,7	0
Oxyde de calcium	4,15	0
Oxyde de magnésium	1,31	0
Apport pour 100 ml (g) :		
Calcium	4,6	4
Magnésium	0,8	0

Tableau V : Composition des solutés calciques utilisés.

2.2.4. CRITERES DE JUGEMENT

Pour l'objectif principal, le critère de jugement a été le sexe du veau. Pour évaluer l'influence du traitement sur la fertilité, il a été relevé pour chaque vache le nombre d'inséminations artificielles nécessaires pour obtenir une gestation

2.2.5. DEROULEMENT PRATIQUE DE L'ESSAI ET RECUEIL DES DONNEES

Avant le début de l'essai, les éleveurs ont été réunis afin d'être renseignés sur le protocole et sensibilisés sur les risques de biais venant de comportements tels que ne retenir que les meilleures vaches pour l'essai, ou ne pas signaler l'omission du traitement pour un animal appartenant au groupe traité, etc... Pour le second essai, une feuille de recueil des données a été fournie pour chaque vache. Les informations suivantes devaient être relevées : nom de la vache, numéro de la lactation, valeur et durée de la lactation précédente, sexe du dernier veau, date et heure de la détection des chaleurs, nom du taureau retenu pour l'insémination artificielle, valeur des productions lactées obtenue lors des deux contrôles laitiers encadrant le traitement, date et heure du traitement, tolérance au traitement, date de la mise-bas, sexe du veau et cause éventuelle de la réforme.

2.2.6. ANALYSE DES DONNEES

L'analyse statistique des données a été réalisée sur une calculatrice programmable (HP 41 C).

2.3. RESULTATS

2.3.1. RESPECT DU PLAN EXPERIMENTAL

Malgré la motivation des éleveurs, leur compétence et les soins apportés à la conception du protocole, des défaillances ont été observées. Pour le premier essai, 516 vaches avaient été prises en considération ; 408 réponses exploitables ont été fournies dont 390 pour des vaches ayant vêlé.Les données manquantes correspondent en grande partie à des animaux ayant été vendus au cours de l'essai pour cause d'infertilité ou de mauvaise production laitière. De plus, un retard ayant été pris entre la conception du plan et son exécution, des vaches appartenant aux lots à traiter étaient déjà inséminées avant le début effectif de l'essai ; ajoutés à cela les oublis de traitement,il est apparu un déséquilibre important pour l'analyse finale entre les animaux traités (n = 95) et les non-traités (n = 295).

Pour le second essai, le recueil des données sur des fiches individuelles a permis de mieux préciser le respect du protocole ; la randomisation avait été effectuée sur 796 vaches; quatre éleveurs ont totalement abandonné l'essai, d'où la perte pour l'expérimentation de 100 vaches. Pour les 26 éleveurs restant, 820 réponses ont été fournies dont 562 correspondent à des vaches ayant fait l'objet de la randomisation préalable. Sur ces 562 réponses, 427 concernent des vaches pour lesquelles le plan a été respecté, et qui ont vêlé. Ce lot (53 % de l'échantillon de départ) sera analysé séparément pour évaluer les effets du traitement sur le sex-ratio. En revanche, les autres analyses statistiques portent sur l'ensemble des réponses, c'est-à-dire

que seront également prises en considération les vaches initialement randomisées mais pour lesquelles le plan n'a pas été respecté et les 258 vaches ajoutées par les éleveurs (145 témoins, 113 traitées). Signalons pour terminer que les informations relatives aux causes de réforme et à l'intervalle chaleur-insémination étaient trop imprécises pour faire l'objet d'une analyse statistique. De même, l'influence du taureau sur le sex-ratio n'a pas été recherchée car leur nombre (n = 75) était trop important vis-à-vis des effectifs inséminés.

2.3.2. EFFET DU TRAITEMENT SUR LE SEX-RATIO

Les résultats obtenus pour les vaches ayant vêlé et pour lesquelles le plan expérimental du second essai a été respecté (n = 427), pour le premier essai (n = 390), pour l'ensemble du second essai (n = 690) et pour les deux essais réunis (n = 1080) sont présentés dans le tableau VI. Concernant les 427 vaches randomisées, le sex-ratio des témoins (102,9) n'est pas significativement différent de celui des traitées (89,6) pour $P < 0,05$. Il en est de même pour le premier essai (104,8 vs 75,9). Par contre, la différence approche le niveau de signification 5 pour cent pour le deuxième essai (113,0 vs 85,4) et la différence est significative pour $P < 0,03$ lorsque l'ensemble des deux essais est pris en considération (109,3 vs 83,2).

2.3.3. EFFET DU TRAITEMENT SUR LE SEX-RATIO EN FONCTION DU NIVEAU DE LA PRODUCTION LAITIERE.

Pour les deux essais, les échantillons avaient été stratifiés en fonction du niveau de production de la dernière lactation ;

Répartition des vaches	Témoins		Traitées		Chi 2 calculé	P
Sexe des veaux	M	F	M	F		
Essai II Vaches randomisées n = 427	105	102	104	116	0,508	0,476
Essai I n = 390	151	144	41	54	1,853	0,173
Essai II n = 690	191	169	152	178	3,369	0,066
Essais I + II n = 1080	342	313	193	232	4,770	0,028

Tableau VI : Effet du traitement sur la répartition des sexes.

(M : mâle - F : femelle)

le tableau VII présente les effets du traitement sur la répartition des sexes en fonction de la dernière lactation. Pour l'ensemble du tableau, Chi 2 = 11,96 avec P = 0,062 ; cela suggère une répartition hétérogène des sexes. Aussi bien chez les vaches témoins que traitées, il apparait qu'un haut potentiel laitier favorise le sexe femelle. Pour les témoins, le sex-ratio des vaches ayant produit plus de 5 500 kg est de 101,2 contre 118,3 pour les vaches ayant eu une production inférieure à 5 500 kg. Pour les traitées, les valeurs correspondantes sont de 102,6 et 69,3.

L'effet du traitement semble plus important pour les vaches ayant un haut potentiel de lactation mais la différence des sex-ratios entre les deux groupes (101,2 vs 69,3) n'est significative que pour $P < 0,1$.

Une étude plus précise de l'effet des niveaux de lactation a été réalisée sur 654 vaches du second essai, pour lesquelles la production laitière au moment de l'insémination a été évaluée par la moyenne arithmétique des deux contrôles laitiers encadrant l'insémination (tableau VIII). Pour l'ensemble du tableau, Chi 2 = 21,1 ; cette valeur est hautement significative (P = 0,012). Pour les témoins et les traitées, le sex-ratio diminue avec l'augmentation de la production laitière (figure 6). Toutefois, ces diminutions ne sont pas significatives pour $P < 0,05$. De même pour chaque classe de production laitière, le traitement n'a pas d'effet significatif pour $P < 0,05$ bien que le sex-ratio des témoins soit globalement supérieur à celui des traitées (116,7 vs 84,8).

Répartition des vaches / Sexe des veaux — Lait (Kg)	Témoins		Traitées		Chi 2 calculé	P
	M	F	M	F		
< 4 000	46	50	20	23	0,023	0,879
4 000 à 5 500	154	119	96	90	1,026	0,311
> 5 500	87	86	52	75	2,571	0,108
Chi 2 calculé	2,780		3,455			
P	0,249		0,177			

Tableau VII : Effet du traitement sur la répartition des sexes en fonction de la production de la dernière lactation (essais I + II)

Répartition des vaches / Sexe des Veaux — lait (Kg)	Témoins		Traitées		Chi 2 calculé	P
	M	F	M	F		
< 18	48	27	24	24	2,363	0,124
18 à 22	68	54	51	52	0,868	0,351
22 à 26	32	37	44	49	0,013	0,909
> 26	33	37	27	47	1,680	0,194
Chi 2 calculé	6,10		3,582			
P	0,106		0,310			

Tableau VIII : Effet du traitement sur la répartition des sexes en fonction de la production lactée au moment de l'insémination (essai II).

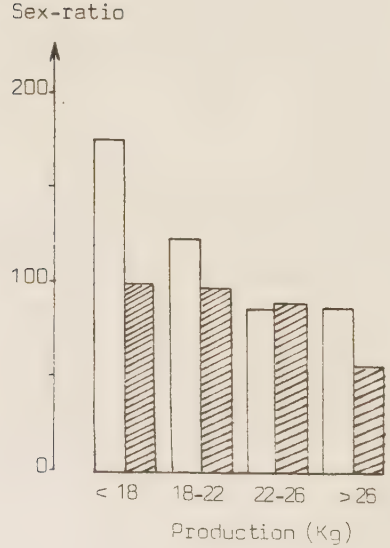


figure 6 : Sex-ratio et production laitière au moment de l'insémination artificielle (blanc = témoins - hachuré = traitées)

2.3.4. EFFET DU TRAITEMENT SUR LE SEX-RATIO EN FONCTION DU SEXE DU DERNIER VEAU

Le tableau IX donne la répartition des sexes en fonction du sexe du dernier veau. Pour les témoins, la probabilité d'avoir un mâle ou une femelle est indépendante du sexe du veau précédent. Chez les traitées, le sex-ratio pour les vaches ayant déjà produit un mâle est supérieur à celui obtenu chez les vaches ayant accouché d'une femelle au terme de la gestation précédente (95,1 vs 58,3). Toutefois, la différence n'est pas significative pour $P < 0,05$. Pour les vaches ayant produit une génisse lors de leur dernière gestation, il apparaît que le traitement a un effet significatif pour $P < 0,03$ sur le sex-ratio (110,9 vs 58,3). En d'autres termes, le traitement ne semble favoriser le sexe femelle significativement que chez les vaches ayant eu un veau femelle lors de leur précédente gestation.

2.3.5. EFFET DU TRAITEMENT SUR LA FERTILITE

Pour 1037 vaches ayant vêlé, le nombre d'inséminations artificielles nécessaires pour obtenir une gestation a été relevé (tableau X). Il s'en dégage que le traitement améliore de façon hautement significative la fertilité ($P < 0,003$) ; c'est ainsi que 75,6 % des vaches traitées ont été fécondées lors de leur première insémination contre 67,3 % ches les témoins.

2.3.6. INFLUENCE DE LA PRODUCTION LAITIERE SUR LA FERTILITE

Pour 662 vaches appartenant au second essai et pour lesquelles la production laitière et le nombre d'inséminations artificielles nécessaires ont été relevées, il n'est apparu aucune variation de la fertilité en fonction de la production laitière

Répartition des Vaches	Témoins		Traitées		Chi 2	P
Sexe des veaux / Dernier veau	M	F	M	F	calculé	
Mâle	92	87	39	41	0,154	0,694
Femelle	81	73	28	48	5,066	0,024
Chi 2 calculé	0,0478		2,255			
P	0,826		0,133			

Tableau IX : Effet du traitement sur la répartition des sexes en fonction du sexe du dernier veau (essais I + II)

Vaches	Témoins		Traitées	
Nombre d'I.A.	Effectif	%	Effectif	%
1	414	67,3	319	75,6
2	128	20,8	67	15,9
3	49	7,0	32	7,6
4 et plus	24	3,9	4	0,95

Tableau X : Influence du traitement sur la fertilité : effectifs de vaches ayant subi 1, 2, 3, 4 et plus inséminations pour être fécondées (essais I + II). Chi 2 = 13,80 et P = 0,0031

2.4. DISCUSSION

L'influence de l'équilibre minéral de la ration alimentaire sur le sex-ratio chez les Bovins reste un sujet très controversé (6)(7). L'une des raisons principales tient à la difficulté de pouvoir réaliser un véritable essai clinique contrôlé sur le terrain comme le démontrent les différents travaux de STOLKOWSKI (50)(51). Pour envisager un éventuel effet du calcium sur le sex-ratio chez les Bovins, nous avons retenu une approche pharmacologique et non nutritionnelle. Cela offrait a priori deux avantages :

a) la simplicité du traitement, permettant en cas d'efficacité sa mise en oeuvre facile par les éleveurs eux-mêmes ;

b) la certitude, sur le plan statistique, que les comparaisons porteraient sur des vaches traitées et témoins, ce qui n'est pas le cas lorsque la variable étudiée (régime alimentaire notamment) est difficilement contrôlable.

Notre étude avait pour ambition initiale d'entrer dans le cadre des essais cliniques contrôlés à visée explicative. Cela exigeait le respect d'un certain nombre de conditions actuellement bien codifiées (1)(34). Les réalités du terrain font qu'une partie seulement des résultats (427 vaches) entre dans cette optique. Pour le reste, il convient de parler d'observation clinique, et les résultats obtenus doivent être considérés avec toutes les réserves qu'impose l'éventuelle occurence de biais.

L'influence du traitement sur le sex-ratio reste difficile à préciser. Lorsque les 1080 vaches ayant vêlé constituent l'échantillon, l'effet est significatif avec un gain

de 6,8 pour cent de femelles chez les traitées. Toutefois, chez les vaches pour lesquelles le plan expérimental a été respecté, le gain (3,4 %) n'est pas significatif. En admettant qu'il existe un effet calcium signigicatif, il apparaît que les différences observées restent beaucoup trop faibles pour justifier la mise en oeuvre systématique d'un tel traitement.

Les stratifications de l'essai en fonction du niveau de production de la dernière lactation et de l'évaluation de la production laitière au moment de l'insémination artificielle semblent dégager une influence du facteur lactation sur le sex-ratio. Chez les témoins, un haut potentiel de lactation (supérieur à 5 500 kg) et une importante production laitière au moment de l'insémination favorisent apparemment le sexe femelle. Chez les traitées, le même phénomène est observé ; cependant, la faiblesse numérique des échantillons ne permet pas de conclure de façon définitive.

Le sexe du veau précédent n'a aucune influence sur le sex-ratio des témoins. En revanche, il apparaît que les vaches ayant eu un veau de sexe femelle lors de leur précédente gestation ont tendance à produire davantage de femelles sous l'influence du traitement que les vaches ayant engendré un mâle.

Si ces diverses observations relatives au sex-ratio devaient être confirmées, on pourrait suggérer que la probabilité d'obtenir un veau femelle est la plus grande chez les vaches à haut niveau de lactation, ayant donné naissance à une femelle lors de la mise-bas précédente et traitées avec du calcium.

Si les effets du traitement sur le sex-ratio restent incertains, les conséquences favorables sur la fertilité sont beaucoup plus nettes. Toutefois, il convient de remarquer que le plan n'a pas été conçu pour mettre en évidence un tel effet et qu'il nous a été impossible d'analyser les causes de réforme.

En définitive, cet essai de terrain ne permet pas d'apporter des arguments décisifs en faveur ou à l'encontre d'une éventuelle influence pharmacologique du calcium sur le sex-ratio. Néanmoins, une calcithérapie réservée aux vaches à haut niveau de production et ayant produit un veau de sexe femelle au terme de la gestation précédente pourrait avoir le double avantage de favoriser le sexe femelle et d'améliorer la fertilité, deux gains non négligeables pour ces animaux de grande valeur génétique et économique.

VU : Le Professeur de l'Ecole Vétérinaire
rapporteur

Professeur Y. RUCKEBUSCH

VU : Le Directeur de l'Ecole Vétérinaire

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE

Professeur R. LAUTIE

VU : Le Président de la Thèse

Professeur BESSOU

VU et PERMIS D'IMPRIMER
Toulouse, le 9-11-1982
Le Président de l'Université Paul Sabatier

UNIVERSITÉ PAUL-SABATIER TOULOUSE

Professeur D. BANCEL

BIBLIOGRAPHIE

---

1 - ANONYMES : "Guidelines for field testing animal medicine". Report of the Association for Veterinary Clinical Pharmacology and Therapeutics working party, 1980.

2 - BACHRACH E. : "La température des êtres vivants et la composition ionique du milieu (2)". Arch. Sc. Phys. et Nat., 1943, XXV, 123.

3 - BARLOW P. et VOSA C.G. : "The Y chromosome in human spermatozoa". Nature, 1970, 266, 961.

4 - BISHOP D.W. : "X and Y spermatozoa". Nature, 1960, 187, 255.

5 - CLUZAN R. et Coll. : "Le métabisulfite de potassium. Etude de toxicité à long terme chez le Rat". Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 1965, 5, (2), 267-281.

6 - COUROT M. : "Le choix du sexe est-il possible chez les Mammifères ?" in La Fécondation, Masson éd., 1975.

7 - COUROT M. : "Peut-on choisir le sexe des enfants ?". La Recherche, 1981, 119, 218 - 220.

8 - COUROT M. et ESNAULT C. : "Sédimentation du sperme et sex-ratio chez les Bovins". Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys., 1973,13, 329 - 334.

9 - DELAHAYE S. : "Le déterminisme ionique de la formation du sexe. Applications sur les Bovins". I S A Beauvais, 1979.

10 - DIASIO R.B. et GLASS R.H. : "Effects of pH on the migration of X and Y spermatozoas". Fert. Steril., 1971, 22, 303.

11 - EVANS J.M., DOUGLAS T.A. et RENTON J.P. : " An attempt to separate fractions rich in human Y sperm". Nature, 1975, 253, 353.

12 - FOUBLE L. : "Influence de l'alimentation sur la détermination des sexes". Rapport de stage, C.F.T.A. de Coqueréaumont, à 76 Clères. 1979, p. 59 - 76.

13 - FÜLÖP L. : "Biotechnical possibilities of the regulation of sexual ratio on cattle". Magyar All. Lapja, 1979, 34, (11), 723 - 725.

14 - HARTMANN M. et LEWINSKI G. : "Untersuchungen über die Geschlechtsbestimmungen und Geschlechtsumwandlung von Ophryotroca puerilis. II. Versuche über die Wirkung von Kalium, Magnesium und Kupfer". Zool. Jahrb., 1938, 58, 551 - 574.

15 - HARVEY E.N. : "Can sex of mammalian offspring be controlled ?" J. Hered., 1946, 37, 71.

16 - HATZOLD O. : "Wunschkind Sohn under Tochter". München, Lehmanns Verlag, 1970.

17 - HENRION R., PAPIERNIK E. et STOLKOWSKI J. : "Choisir le sexe avant la conception ?". Concours Médical, 1975, 7077 - 7083.

18 - HERBST C. : "Untersuchungen zur Bestimmung des Geschlechts. II. Die Abhängigheit des Geschlechts von Kalium gehalt des umgebenden Mediums bei Bonellia viridis". Archiv. f. Entwickl. Mechan., 1935, 132.

19 - HORNE H. W. et THIBAULT J.P. : "Sperm migration through the human female reproductive tract". Fert. Stéril., 1962, 13, 135.

20 - KRZANOWSKI M. : "Dependence of primary and secondary sex-ratio on the rapidity of sedimentation of bull semen". J. Reprod. Fert., 1970, 23, 11 - 20.

21 - LAMOTTE M. et L'HERITIER P. : "Biologie générale". Paris, Doin éd., 1965.

22 - LORRAIN J. et GAGNON R. : "Sélection préconceptionnelle du sexe". Union Méd. Canada, 1975, 104, 800 - 803.

23 - MICHEL O., BELLEC A. et STOLKOWSKI J. : "Influence du benzoate d'oestradiol sur la distribution des sexes dans une population de têtards élevés en solution minérale". Arch. Sc. Physiol., 1971, 25, (2), 187 - 202.

24 - MIRSKY A.E. et OSAWA S. : "The interphase nucleus". In "The Cell" by Brachet and Mirsky, 1969, II, 737. Acad. Press.

25 - MORESCALCHI A. : "Il corredo cromosomico di Discoglossus pictus (Otth) : cromosomi sessuali, spiralizzazione cromosomica e zone eterocromatiche". Caryologia, 1964, 17, (2), 327 - 345.

26 - MORIN F. et coll. : "Action d'anticorps anti-trophoblastiques sur la gestation. Etude expérimentale". J. Gynec. Obst. Biol. Reprod., 1975,4, 309.

27 - PEARSON P.L. et BOBROW M. : "Fluorescent staining of the Y chromosome in meïotic stages of the human male". J. Reprod. Fert., 1970, 22, 177.

28 - PRAVE M. : "La proportion naturelle des sexes chez les animaux (sex-ratio). Les tentatives de modification". Th. Doct. Vét., Lyon 1968.

29 - QUINLIVAN W.L. et SULLIVAN H. : "The ratios and separation of X and Y spermatozoa in human semen". Fertil. Ster., 1974, 25, 4.

30 - ROBERTS A.M. : "Gravitational separation of X and Y spermatozoa". Nature, 1972, 238, 223.

31 - ROTCHILD B. : "X and Y spermatozoa". Nature, 1960,187, 253.

32 - SCHILLING E. : "La répartition des sexes chez les Bovins et les possibilités de l'influencer".Revue de l'élevage, 1969,11, 27 - 31.

33 - SCHWARTZ D. : "Méthodes statistiques à l'usage des médecins et des biologistes". Flammarion médecine-sciences Paris. 3° édition. 1969.

34 - SCHWARTZ D., FLAMANT R. et LELLOUCH J. : "L'essai thérapeutique chez l'Homme". Flammarion éd. Paris. 1970.

35 - SEARLE R., JENKINSON E. et JOHNSON M. : "Immunogenicity of mouse trophoblast and embryonic sac". Nature, 1975, 255, 719.

36 - SEGUY J. : "Sélection volontaire du sexe. Point actuel de nos connaissances". J. Gyn. Obst. Biol. Reprod. 1975, 4, 29 - 36.

37 - SEGUY J. : "Les méthodes de sélection naturelle et volontaire des sexes". J. Gyn. Obst. Biol. Reprod., 1975, 4, 145 - 149.

38 - SEGUY J. : Détermination naturelle et sélection volontaire du sexe". Vie Médicale, 1975, 38, 3199 - 3204.

39 - SEGUY J. : "Détermination et sélection volontaire du sexe. Acquisitions récentes". Nouvelle Presse Méd., 1976, Février, 5, (8), 503 - 507.

40 - SHETTLES L. B. : "X and Y spermatozoa". Nature, 1960, 187, 254.

41 - SHETTLES L.B. : "Différence in human spermatozoa". Fertil. Stéril., 1961, 12, 20.

42 - SHETTLES L.B. : "Factors influencing sex-ratio". Int.J. Fert., 1970, 8, 643.

43 - STOLKOWSKI J. : "Influence possible de la nutrition minérale sur la répartition des sexes chez la Vache. Une enquête rétrospective". C.R. Acad. Sci. (Paris), 1967, 265, 1059 - 1062.

44 - STOLKOWSKI J. : "Le déterminisme ionique de la formation du sexe, étudié chez un Batracien anoure : Discoglossus pictus (Otth) et dans le règne animal". Biol. Médic., 1970, LIX, 289 - 405.

45 - STOLKOWSKI J. : "Les femmes pourront-elles dans un proche avenir choisir le sexe de leurs enfants en suivant un régime alimentaire ?". Union Méd. Canada 1975, 104, 790 - 799.

46 - STOLKOWSKI J. : "Alimentation minérale (Na^+, K^+, Mg^{++}, Ca^{++}) chez des femmes n'ayant que des enfants du même sexe". Cahiers Nutr. et Diététique, 1977, 12, (2), 153 - 156.

47 - STOLKOWSKI J. et BELLEC A. : "Influence du rapport K/Ca du milieu sur la distribution des sexes chez les têtards de Discoglossus pictus (Otth) élevés en solution de Ringer". C. R. Acad. Sci. (Paris), 1960, 251, (16), 1669 - 1671.

48 - STOLKOWSKI J., BELLEC A. et MICHEL O. : "Action amphisexuelle du propionate de testostérone sous l'influence des variations de composition ionique du milieu chez les têtards de Discoglossus pictus (Otth) élevés en solution minérale".C.R.Acad.Sci.(Paris), 1969, 268. 1623-1626.

49 - STOLKOWSKI J. et DUC M. : "Rapports ioniques : $(K^+/Ca^{++} + Mg^{++})$ et $(K^+ + Na^+/Ca^{++} + Mg^{++})$ dans l'alimentation des femmes n'ayant que des enfants du même sexe. Enquête rétrospective". Union Médic. Canada, 1977, 106, 1351 - 1355.

50 - STOLKOWSKI J. et EMMERICH E. : "Influence de la nutrition minérale de la Vache sur le sex-ratio. Une enquête prospective, un essai expérimental". Ann. Endocrinol., 1971, 32, 3 - 15.

51 - STOLKOWSKI J. et LEFEVRE M. : "Essais de contrôle du sexe chez les Bovins sous l'influence de la nutrition minérale". Rec. Méd. Vét., 1977, 153, (1), 37-44.

52 - STOLKOWSKI J. et LEFEVRE M. : "Augmentation du nombre de femelles dans la descendance de vaches traitées par la vitamine D_3". Point. Vét., 1980, 10, (50), Juillet-Aout.

53 - SUNG LEE B. et TAKANO K. : "Sex-ratios in human embryos obtained from 1452 cases of induced abortion". Am. J. Obstet. Gynec., 1970, 108, 1294.

54 - TOUTAIN P.L. et DANTZER R. : "L'essai thérapeutique chez l'animal". in "Essais cliniques dans l'espèce bovine. Rôle du praticien". Soc.Franç. Buiâtrie, Paris, 25 - 5 - 1978.

55 - TOUTAIN P.L. et DUMONT J. : "Essai de contrôle pharmacologique du sex-ratio chez la Vache par le calcium". Rev. Méd. Vét., 1982, 133, (10), 623-633.

56 - TZONIS K. : "Beeinflussung der Geschlechtsverhältnisse bei Dinophilus apatris (Korsch) durch Aussenbedingungen". Zool. Jahrb., 1938, 58, 539 - 550.

57 - UNTERBERGER F. : "Das Problem der willkürlichen Beeinflussung des Geschlechts beim Menschen". Deutsch. Medizin. Wochenschrift, 1930, 61, 2.

58 - VACHEZ B. : "Déterminisme du sexe et sex-ratio". Th. Doct. Vét., Lyon, 1978.

59 - VAISSAIRE J.P. : "Sexualité et reproduction des Mammifères domestiques et de laboratoire". 1977, 458 p., Maloine éd.

60 - VANDERVLIET W.L. et HAFEZ E.S. : "Survival and aging of spermatozoa". Am. J. Obstet. Gynecol., 1974, 118, 7.

61 - VAN DUIJN C. : "Nuclear structure of human spermatozoa". Nature, 1960, 188, 916.

62 - WITSCHI E. : "Sex reversal in female tadpoles of Rana sylvatica after high temperature". J. Exp. Zool., Paris, 1929, 52, 267 - 280.

Imp. Corep - 21, rue Viguerie - 31300 Toulouse - Tél. : 42.01.19